

1133

1967

**Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der
Universität Würzburg
(Direktor: Professor Dr. med. H. Seeliger)**

**Untersuchungen über die Verwendung von
polyanetholsulfosaurem Natrium („Liquoid“) in der
bakteriologischen Blutkulturtechnik**

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Klaus-Dieter Fischer
aus Worbis in Thüringen

Würzburg 1967

**Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der
Universität Würzburg
(Direktor: Professor Dr. med. H. Seeliger)**

**Untersuchungen über die Verwendung von
polyanetholsulfosaurem Natrium („Liquoid“) in der
bakteriologischen Blutkulturtechnik**

Inaugural - Dissertation

**verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde**

**vorgelegt von
Klaus-Dieter Fischer
aus Worbis in Thüringen**

Würzburg 1967

Referent: Universitätsdozent Dr. W. Döll

Korreferent: Professor Dr. H. Seeliger

Tag der Promotion: 21. 11. 67

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

MEINEN ELTERN

IN DANKBARKEIT

GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	1
1. Vorbedingungen für den Erregernachweis im strömenden Blut und seine Beurteilung	1
2. Liquoid in der bakteriologischen Blutkultur-Technik	5
3. Fragestellung	6
B. Material und Methodik	8
1. Bakterienstämme	8
2. Liquoidlösungen	8
3. Nährmedien	8
4. Sterilisation	9
5. Keimzählung	9
6. Verdünnungsreihen	9
7. Verarbeitung der Liquoidvenülen	9
C. Eigene Untersuchungen	11
1. Versuche zur Wachstumshemmung durch Liquoid im Röhrchenverdünnungstest	11
2. Überleben von Keimen in Gegenwart von Liquoid	17
3. Keimwachstum auf liquoidhaltigen Blutagar-nährböden	19
4. Vergleich zweier Blutkulturmethoden	23
5. Versuch einer Bewertung der Ergebnisse bei der Untersuchung von 3963 Liquoidvenülen	23
D. Diskussion	29
E. Zusammenfassung	34
Literaturverzeichnis	I-IX
Lebenslauf	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung und Fragestellung

Das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung strömenden Blutes ist für die Therapie in Fällen unklaren oder septischen Fiebers von entscheidender Bedeutung. Erst die Isolierung des für die Erkrankung verantwortlichen Mikroorganismus sichert die klinische Diagnose, und die Bestimmung seiner chemotherapeutischen Empfindlichkeit macht eine gezielte Therapie möglich.

Wenn daher FRIEDMANN (27) 1935 sagt, "die Züchtung pathogener Keime aus dem strömenden Blut gehört zu den undankbarsten bakteriologischen Aufgaben", dann können damit nicht Notwendigkeit und Bedeutung, sondern nur Technik, Beurteilung und Ausbeute dieses bakteriologischen Verfahrens gemeint sein.

Die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit ergeben sich aus diesen die Blutkulturtechnik belastenden Faktoren. Diese werden daher zunächst skizziert.

1. Vorbedingungen für den Erregernachweis im strömenden Blut und seine Beurteilung

Der Erfolg der bakteriologischen Züchtung von Keimen aus dem Patientenblut hängt von einigen technischen Vorbedingungen ab:

- a) Untersuchung ungeronnenen Blutes
- b) Ausschaltung der Eigenbakterizidie des Blutes
- c) Vermeidung bakterieller Verunreinigungen der Blutproben
- d) Auswahl geeigneter Entnahmestellen und Entnahmezeiten
- e) Auswahl optimaler Kulturmedien und bakteriologischer Techniken

Zu a: Das Fibringerinnsel geronnenen Blutes schließt Mikroorganismen ein und erschwert damit ihren bakteriologischen Nachweis. Das Anlegen bakteriologischer Kulturen vor Gerin-

nung der Blutprobe direkt am Krankenbett - also sofort nach der Blutentnahme (18 43 45 62 63 65 69 71 74 79) - scheint also zunächst vorteilhafter zu sein als Versuche, Keime aus geronnenem Blut zu züchten (23 49 54). Die Untersuchung ungeronnener Blutproben im bakteriologischen Laboratorium ist nur durch Verwendung gerinnungshemmender Mittel möglich. So wurden Citrat (1 2 3 9 10 21 32 34 42 74 75 87), Oxalat (75), Saponine, das sind Kolloidsubstanzen aus der Seifen- und Senegawurzel (63 75), Novirudin, ein Melaninsäureabkömmling (2 48 52) und Heparin (2) untersucht, oder es wurde defibriniertes Blut (20 76) verwendet. Über den Gebrauch von "Liquoid" wird als Gegenstand der zu beschreibenden eigenen Untersuchungen weiter unten ausführlich berichtet.

Zu b: Ohne Zweifel vermag das strömende Blut Mikroorganismen zu schädigen. Hierzu sei auf die Monographie von H. SCHMIDT (70) "Fortschritte der Serologie" verwiesen, wo diese Bakterizidie als "Wirkungen des Blutes, Plasmas oder Serums auf Bakterien, die direkt zur Entwicklungshemmung, zum Absterben und eventuell zur Lyse führen ..." definiert und anschließend ausführlich diskutiert wird. *) Zur Ausschaltung dieser Bakterizidie wurden verschiedene Wege beschritten. So wurde z.B. empfohlen, das zu untersuchende Blut einfach zu verdünnen (1 3 13 25 33 62 69) oder nur das Sediment einer zentrifugierten Blutprobe für die Kultur zu verwenden (1).

*) In eigenen Vorversuchen zur Bakterizidie waren bei einer Einsaat von 250 - 300 Keimen pro ml frisches Menschenserum *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella anatum* und *Proteus vulgaris* nach 1 h bei 37° C in Subkulturen auf Nähragar nicht mehr züchtbar; bei einer Einsaat von 22 Millionen Coli-Bakterien konnten nach 21 Std. nur noch 52 wachstumsfähige Einheiten kultiviert werden. Grampositive Keime wie *Staphylococcus aureus*, haemolysierende Streptokokken und Enterokokken wuchsen dagegen unbeeinflusst in den Subkulturen an. - In hitzeinaktivierten Seren (30 min, 56° C) vermehrten sich alle untersuchten Bakterienarten normal.

Andererseits suchte man nach chemischen Mitteln zur Inaktivierung der Eigenbakterizidie des Blutes, die möglichst gleichzeitig auch die Blutgerinnung verhindern sollten. Citrat (34 60), Novirudin (2 52), Saponin (18 63 75), Vertren (68), Trypsin (35 37), Kationenaustauscher (39) und Kochsalz in hypertonischer Lösung (6 7 31) hatten viele Nachteile und erst Liquoid als Antikoagulans und bakterizidiehemmende Substanz erwies sich als gut brauchbar für bakteriologische Blutkulturen.

Zu c: Auf dem Wege von der Entnahme am Patienten bis zum Abschluß der bakteriologischen Untersuchung besteht mehrfach die Gefahr bakterieller Verunreinigung der Blutkulturen.

Die Haut des Patienten und ihre Anhangsgebilde enthalten reichlich saprophytäre Keime (40). Vor der Blutentnahme muß hier nach gründlicher Reinigung der Haut eine genügend lange dauernde Desinfektion mit geeigneten Desinfektionsmitteln, wie etwa Jodtinktur, Merfenlösung, Mercurochrome, 70 % Alkohol, Aether, Trypaflavin (3 13 18 25 42 44 49 60 63 69 71 74 79) durchgeführt werden. MOSNY u. DUMONT (55) gehen sogar soweit, vor der Blutentnahme die Thermokauterisation der Haut an der Entnahmestelle zu fordern.

Im bakteriologischen Laboratorium dürfen die Blutproben nur in staubfreier, unbewegter Luft nach Abflammen der Öffnungen der Kulturgefäße verarbeitet werden. Selbstverständliche Voraussetzung sind sterile Nährböden. Ihre wiederholte Prüfung auf Wachstum darf nur unter den üblichen sterilen Kautelen bakteriologischer Technik erfolgen. Geschlossene Bebrütungssysteme und Nährböden in Castenada-Flaschen (11 13 14 26 50 51 60 61 65 67 74) können dabei sehr helfen, bakterielle Verunreinigung der Blutkulturen zu vermeiden.

Zu d: Für die bakteriologische Untersuchung wird das Blut aus der v. mediana cubiti entnommen, jedoch empfehlen einige Autoren (42 56 62 83) zusätzlich die Untersuchung arteriellen Blutes aus der a. radialis oder femoralis, da die Mikroorganismen im venösen Blut durch das periphere Kapillarnetz ausgefiltert sein könnten; durch diese Maßnahme

konnten Sepsisfälle mit negativer venöser Blutkultur geklärt werden. Bei vergleichenden Untersuchungen mit Entnahme aus verschiedenen Blutgefäßen fanden REESON u.a. (5) die höchsten Keimzahlen im arteriellen Blut, gleich welcher Herkunft, und im venösen Blut der oberen Extremität. - Bei Endocarditis lenta, Typhus und einigen anderen Erkrankungen wird außerdem die Punktion des Knochenmarks empfohlen (62 74 80).

Als günstigster Zeitpunkt zur Blutentnahme wird im Allgemeinen die Zeit kurz vor oder im Fieberanstieg, oder der Zustand hohen Fiebers beim Patienten empfohlen (3 22 25 42 60 62 64 66 73 77 79). STILLE (79) hält die Blutentnahme im Fieberanstieg für sinnvoll nur bei Sepsis durch *Escherichia coli* und einige andere Enterobakteriaceen, die ein gleichartiges Krankheitsbild hervorrufen, während bei Staphylokokkensepsis, Typhus, Endocarditis lenta, Brucellose u.a. auch ohne die klinische Erscheinung "Fieber" die Blutkultur lohnend sei. Speziell bei Typhus und Paratyphus soll der günstigste Zeitpunkt zur bakteriologischen Blutuntersuchung etwa eine Woche nach Fieberbeginn liegen (54). - Schließlich sollte eine Blutkultur vor Beginn einer Chemotherapie durchgeführt werden (3 79). Allerdings hatte OTTE (62) bei wiederholter Entnahme von Blut an Patienten mit Endocarditis lenta ganz kurz nach Therapiebeginn mit Penicillin die besten Ergebnisse, was er auf das Losreißen fibrinöser Auflagerungen vom Endocard zurückführte.

Zusatz: Ein optimales Universalmedium zur Züchtung aller im strömenden Blut möglicherweise nachzuweisenden Bakterien gibt es nicht. Es werden dementsprechend stets verschiedene flüssige und feste Nährböden nebeneinander, sowie verschiedene Bebrütungstechniken - aerobe und anaerobe - benutzt werden müssen. Der Zusatz von Farbstoffindikatoren (16 17 24), Para-Aminobenzoessäure und Penicillinase (42 44 65 74 79), die orale Verabreichung von Para-Aminobenzoessäure vor der Blutentnahme (30) oder die Beimpfung des Dottersacks angebrüteter Hühnereier (36 57 78) konnten sich nicht generell zur Erregerzüchtung in Blutkulturen durchsetzen.

Die Beurteilung des Ergebnisses der bakteriologischen Blut-

untersuchungen ist keineswegs immer leicht. Wenn bei dem klinischen Bild einer Sepsis *Salmonella typhi* oder massenhaft *Escherichia coli* in verschiedenen gleichzeitig benutzten Kulturverfahren nachgewiesen werden können, wird der Bakteriologe diese als Erreger annehmen dürfen. Sehr viel schwieriger jedoch ist bereits der Nachweis von Staphylokokken in Blutkulturen zu beurteilen. Oft wird nur in Zusammenarbeit mit dem behandelnden Arzt und durch wiederholte Blutkulturen geklärt werden können, ob die gezüchteten Staphylokokken als Erreger oder als sekundäre Verunreinigungen von der Haut des Patienten oder aus der Luft anzusehen sind. Ähnlich schwierig sind *Serratia*-Arten (8), *Bacterium anitratum* u. a. (72) in Blutkulturen zu beurteilen.

2. Liquoid in der bakteriologischen Blutkultur-Technik

Polyanetholsulfosaures Natrium (Liquoid^{*)}) ist ein in Wasser lösliches, in Alkohol unlösliches braunes Pulver. Seine wäßrige Lösung reagiert neutral; sie ist autoklavierbar und unbegrenzt haltbar. Liquoid ist unempfindlich gegenüber schwachen Säuren und Basen.

Liquoid wurde 1930 als Antikoagulans entwickelt (12 15 82), kam jedoch aus hier nicht zu diskutierenden Gründen nicht zur therapeutischen Anwendung beim Menschen (46). Seine Verwendung zur Gerinnungsverhinderung in bakteriologischen Blutkulturen setzte sich jedoch durch, als italienische Autoren (2 4 28 52) nachwiesen, daß diese Verbindung die Vermehrung von Bakterien im Blut fördert.

Nur vereinzelt wurde auf Wachstumshemmung durch Liquoid hingewiesen: es soll in Konzentrationen von 0,1 - 0,2 % das Wachstum von Meningokokken (35) und bei 0,08 % anaerobe Streptokokken hemmen (37). Zum Erregernachweis bei Endocarditis lenta soll es der Ascitesbouillon (62) nicht überlegen sein. PENFOLD und Mitarb. (63) ziehen dem Liquoid das Saponin vor.

^{*)} Hersteller: Deutsche Hoffmann - La Roche AG Grenzach/Baden

Diesen Befunden stehen die positiven Beurteilungen anderer Untersucher (22 27 31 34 35 41 59 60 64 68 75 79 81 86) gegenüber, die Liquoid erprobten und damit bessere Ergebnisse erzielten als zuvor. Seine Verwendung könne sogar bei der Untersuchung auf Salmonellen die übliche Kultur in gallehaltigen Nährböden ersetzen (27 59). Durch Liquoid wird in den Blutkulturen eine frühere Erregerdiagnose möglich: während in liquoidfreien Kulturen noch nach mehreren Wochen mit beginnendem Wachstum gerechnet werden muß (25 42 47 69), verliefen liquoidhaltige Blutkulturen spätestens nach dem 5. - 7. Bebrütungstag positiv. Schließlich wird auf den Vorteil hingewiesen (27 64 81), daß liquoidhaltiges Blut unbedenklich für die Reaktion nach WIDAL zum Nachweis von Agglutininen gegen Bakterien benutzt werden kann.

Für die Praxis der Verwendung von Liquoid in der Blutkulturtechnik steht die "Liquoidvenüle" ^{*)} zur Verfügung. Sie enthält 1 ml einer 1 %igen Liquoidlösung und soll nach Angaben des Herstellers mit etwa 8 ml Patientenblut gefüllt werden. Die Liquoidkonzentration der Blutprobe würde in diesem Falle 0,11 % betragen. Bei dieser Liquoidkonzentration müßte aber bereits mit Wachstumshemmung einzelner Keimarten (s. oben) gerechnet werden. Diese Verhältnisse werden noch ungünstiger, wenn - wie oft bei Blutentnahme am Kleinkind und Säugling - weniger als 8 ml Blut entnommen werden können. Im Extremfalle stiege dann die Liquoidkonzentration bis nahe 1 %.

3. Fragestellung

Wie ausgeführt, werden Liquoidvenülen in vielen bakteriologischen Laboratorien zur Züchtung von Keimen aus dem strömenden Blut benutzt. Es wurde außerdem darauf verwiesen, daß bei Liquoidkonzentrationen um 0,1 % das Wachstum von Meningokokken und anaeroben Streptokokken gehemmt wird. Da die Liquoidkonzentration der Venülen nach der Blutentnahme mit der Menge des Blutes variiert, ergibt sich die Frage, ob und bei welchen Liquoidkonzentrationen mit einer

^{*)} Hersteller: Behringwerke AG Marburg/Lahn

Wachstumshemmung, also negativem bakteriologischem Blutkulturbefund trotz anwesender Keime, zu rechnen ist.

Am Hygiene-Institut Würzburg wird eine andere Technik der Blutkultur geübt, als sie von MASSA und BATTISTINI (52) ebenso wie vom Hersteller der Liquoidvenüle ursprünglich vorgeschlagen wurde. Dies gab Veranlassung zu einem Versuch, die Ergebnisse bzw. die Ausbeuten beider Verfahren zu vergleichen.

Die in den Jahren 1959 - 1966 am Würzburger Hygiene-Institut erhaltenen Blutkulturergebnisse wurden kritisch gesichtet. Dabei sollte die Frage geprüft werden, ob sich ein Erregerwandel nachweisen läßt und ob die Befunde des Hygiene-Instituts mit den Ergebnissen anderer Autoren verglichen werden können.

B) Material und Methodik

1. Bakterienstämme

Folgende Bakterienarten wurden für die verschiedenen experimentellen Untersuchungen benutzt:

Staphylococcus aureus
hämolysierende Streptokokken
Neisseria meningitidis
Escherichia coli
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella anatum
Brucella abortus
Listeria monocytogenes Typ 4 b

Die Stämme waren aus dem laufenden Untersuchungsmaterial des Würzburger Hygiene-Instituts frisch isoliert und identifiziert. Sie wurden für die Dauer der Versuche in paraffinverschlossenen Agarstichkulturen im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt und im Abstand von 1 Woche überimpft.

2. Liquidlösungen

Die Konzentrationen der Liquidlösungen sind in g/100 ml angegeben.

3. Nährmedien

Als Nährmedien wurden für Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella anatum und Pseudomonas aeruginosa Nährbouillon und Nähragar, für hämolysierende Streptokokken, Listeria monocytogenes und Brucella abortus Traubenzuckernährbouillon und Levinthal-Agar verwendet. Zur Züchtung von Neisseria meningitidis wurde Trypticase-Soy-Bouillon^{*)} mit steril filtriertem, 30 min bei 56° C inaktiviertem Menschenserum im Verhältnis 3 : 1 gemischt; als feste Nährmedien wurden Menschenblut-Nähragar und Trypticase-Soy-Agar^{*)} mit Zusatz von Traubenzuckernährbouillon benutzt.

^{*)} Hersteller: Baltimore Biological Laboratory, Baltimore/Maryland

4. Sterilisation

Die Sterilisation der verwendeten keimfreien Materialien (Petrischalen, Pipetten, Nährmedien usw.) erfolgte entweder im Heißluftsterilisator mit Luftumwälzung 2 h bei 180° C oder im Autoclaven bei 120° C und 1 Atü. 20 min.

5. Keimzählung

Zur Keimzählung wurde die Gußplattenmethode benutzt, die jedoch etwas modifiziert wurde: Die sterilen Petrischalen wurden vor Versuchsbeginn mit einer ganz dünnen Nähragarschicht ausgegossen und getrocknet. Darauf wurde je 1 ml Keimsuspension aus den Verdünnungsreihen (s. Punkt 6) pipettiert und mit auf 48° C abgekühltem Nähragar, Levinthal-Agar oder Trypticase-Soy-Agar gut vermischt. Nach Festwerden dieser Schicht wurde erneut Nähragar als dünne Abdeckung aufgegossen. Dieses Vorgehen ist zwar etwas aufwendig, führt jedoch dazu, daß nur in der mittleren Schicht gleichgroße Kolonien entstehen, und vermeidet flächenhaftes Ausbreiten von Keimen zwischen Glas und Agar oder auf der Oberfläche. Es konnten so Keimzahlen bis zu 3000 pro Petrischale durch Markieren mit einem Tintenschreiber, der ein Zählwerkiterrückt, gezählt werden (19).

6. Verdünnungsreihen

Zur Herstellung der Verdünnungsreihen wurden 4,5 ml sterile physiologische Kochsalzlösung (0,85 %ig) in Reagenzgläser vorgelegt. Durch Zugabe von 0,5 ml der zu verdünnenden Keimsuspensionen und Überpipettieren von 0,5 ml wurden geometrische Verdünnungsreihen im Verhältnis 1:10:100 usw. erhalten.

7. Verarbeitung der Liquoidvenülen

Die Venülen wurden in 3 verschiedenen Techniken verarbeitet: Technik a) und b) waren, bzw. sind, Routine-Techniken des Würzburger Hygiene-Instituts. Die Technik c) lehnt sich an die Methode von MASSA u. BATTISTINI (52) an; sie wird vom Hersteller der Liquoid-Venüle empfohlen.

- a) Etwa 9/10 des Inhaltes der Venülen wurde in einen Kolben mit 80 ml auf 48° C abgekühlten Levinthal-Agar verbracht, der zusätzlich mit 10 ml Traubenzuckernährbouillon vermischt wurde. Von dem größten Teil dieses Gemisches wurden 4 Gußplatten hergestellt. Aus dem Rest wurden unter Zusatz von Traubenzuckernährbouillon 3 Hochschichtagarröhrchen mit abgestufter Blutkonzentration hergestellt. Der Rest des Blutes im Venülenröhrchen wurde mit Traubenzuckernährbouillon zu einem flüssigen Medium angereichert.
- b) Ab Mai 1965 wurde das Nährboden-Spektrum des Blutkulturverfahrens vergrößert: Es wurde eine Gußplatte und ein Hochschichtagarröhrchen - 5-10 % Blut enthaltend - mit Levinthal-Agar angelegt, außerdem wurde Liquoidblut in Thioglycollatbouillon, Robertsonbouillon und in Traubenzuckernährbouillon bei 37° C bebrütet.
- c) Während des Zeitraumes der vorliegenden Untersuchungen wurden 100 Venülen zusätzlich bei 37° C bebrütet, nachdem der Gummverschluss der Venüle durch einen sterilen Zellstoffpreßstopfen ersetzt war. 30 Tage lang wurde - zunächst täglich, nach einer Woche in länger werdenden Intervallen - durch Anfertigen eines Gram-Präparates und Abimpfen auf Levinthal-Nährböden das Eintreten von Bakterienwachstum geprüft.
- Spezielle Methoden und Einzelheiten der Versuchsanordnungen sind wegen des besseren Verständnisses zu Beginn der entsprechenden Abschnitte im experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit beschrieben.

C. Eigene Untersuchungen

1. Versuche zur Wachstumshemmung durch Liquoid im Röhrchenverdünnungstest

a) Methodik

Benutzte Bakterienstämme: *Staphylococcus aureus*, hämolysierende Streptokokken, *Escherichia coli*, *Salmonella anatum*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Bebrüten der Stämme in Nährbouillon 16 h bei 37°, und Reimpfen von je 12 ml der nachstehend genannten liquoidhaltigen Nährbouillon mit 20000 - 100000 Keimen pro ml. Die Keimzahl wurde so hoch gewählt, um den mittleren Fehler von Röhrchen zu Röhrchen möglichst klein zu halten.

Bebrüten der liquoidhaltigen Röhrchenverdünnungsreihen bei 37° und Keimzählungen nach dem unter Punkt B, Teil 5 genannten Gußplattenverfahren sofort nach der Beimpfung und nach 1, 2, 5 und 10 Tagen Bebrütung bei 37° C.

Liquoidhaltige Nährbouillon mit 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,15 %, 0,2 %, 0,25 %, 0,5 %, 1 %, 2 % und 5 % Liquoid (Negativ-Kontrollen: Nährbouillon ohne Liquoid).

b) Ergebnisse

Die Ergebnisse der Versuche wurden für jeden Stamm gesondert graphisch dargestellt (s. Abb. 1-5). Dabei wurden wegen der größeren Übersichtlichkeit die Kurven der Konzentrationen 0,2 %, 0,25 % und 1 % weggelassen; sie bewegen sich jeweils etwa zwischen den Kurven der benachbarten Konzentrationen; aus den beiden Kontrollen wurden die Mittelwerte gebildet. Für die hämolysierenden Streptokokken wurde eine gesonderte Art der graphischen Darstellung gewählt, da diese Keime nur bis zu 2 Tagen zuverlässig gezählt werden konnten, verursacht vermutlich wegen rascheren Absterbens durch Absinken des pH-Wertes der Nährlösung.

Die Abb. 1 und 2 zeigen, daß *Salmonella anatum* und *Pseudomonas aeruginosa* vom Liquoid völlig unbeeinflusst bleiben. Die Kurvenwerte bei *Pseudomonas aeruginosa* zeigen eine stärkere Streuung,

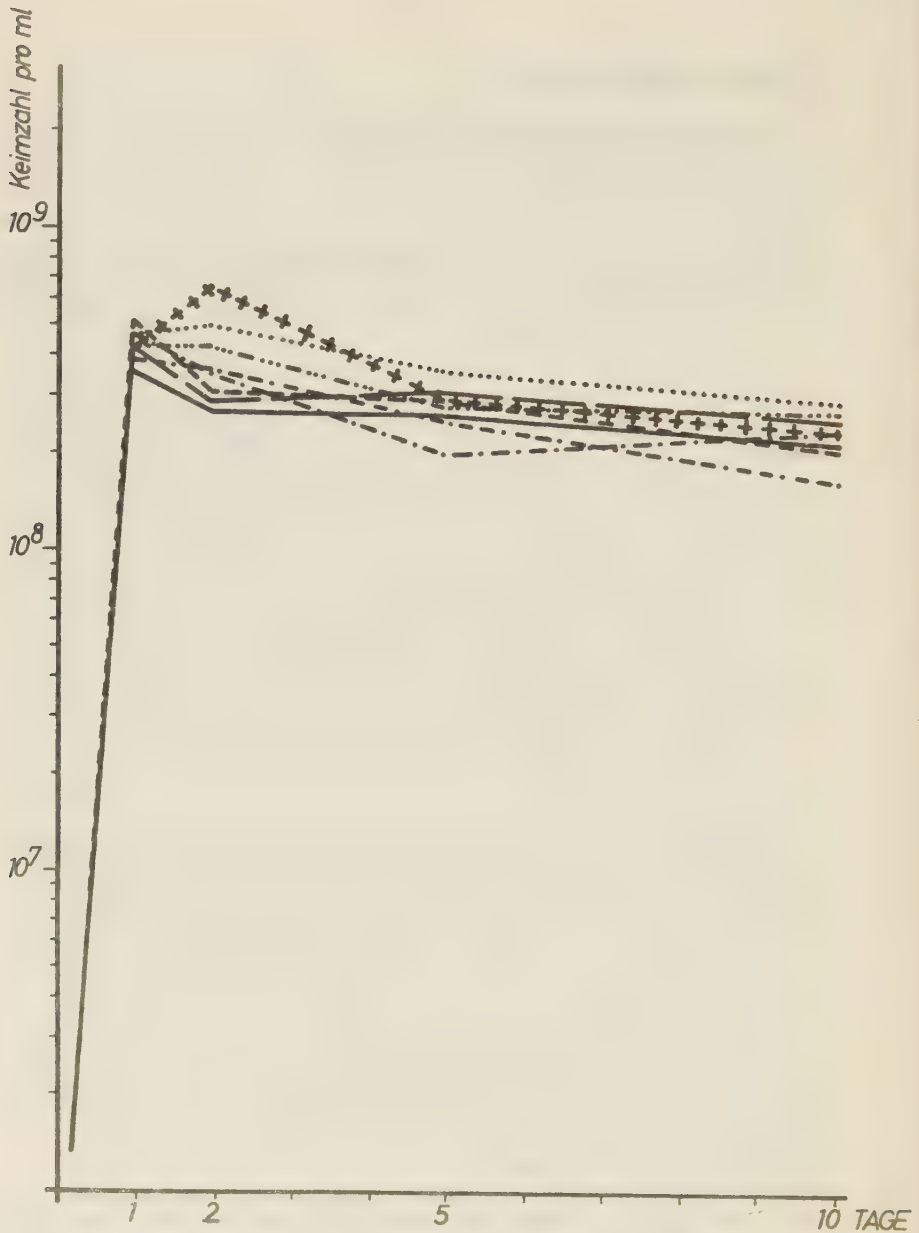


Abb. 1: Wachstum von *Salmonella anatum* in Gegenwart von Liquoid im Röhrchenverdünnungstest.

Zeichenerklärung: Negativkontrollen: + + + + 0,01 % L.:
0,05 % Liquoid: ----- 0,1 % L.: -.-.-.- 0,15 % L.: ---
0,5 % Liquoid: - - - - 2,0 % L.: — — — 5,0 % L.: —————

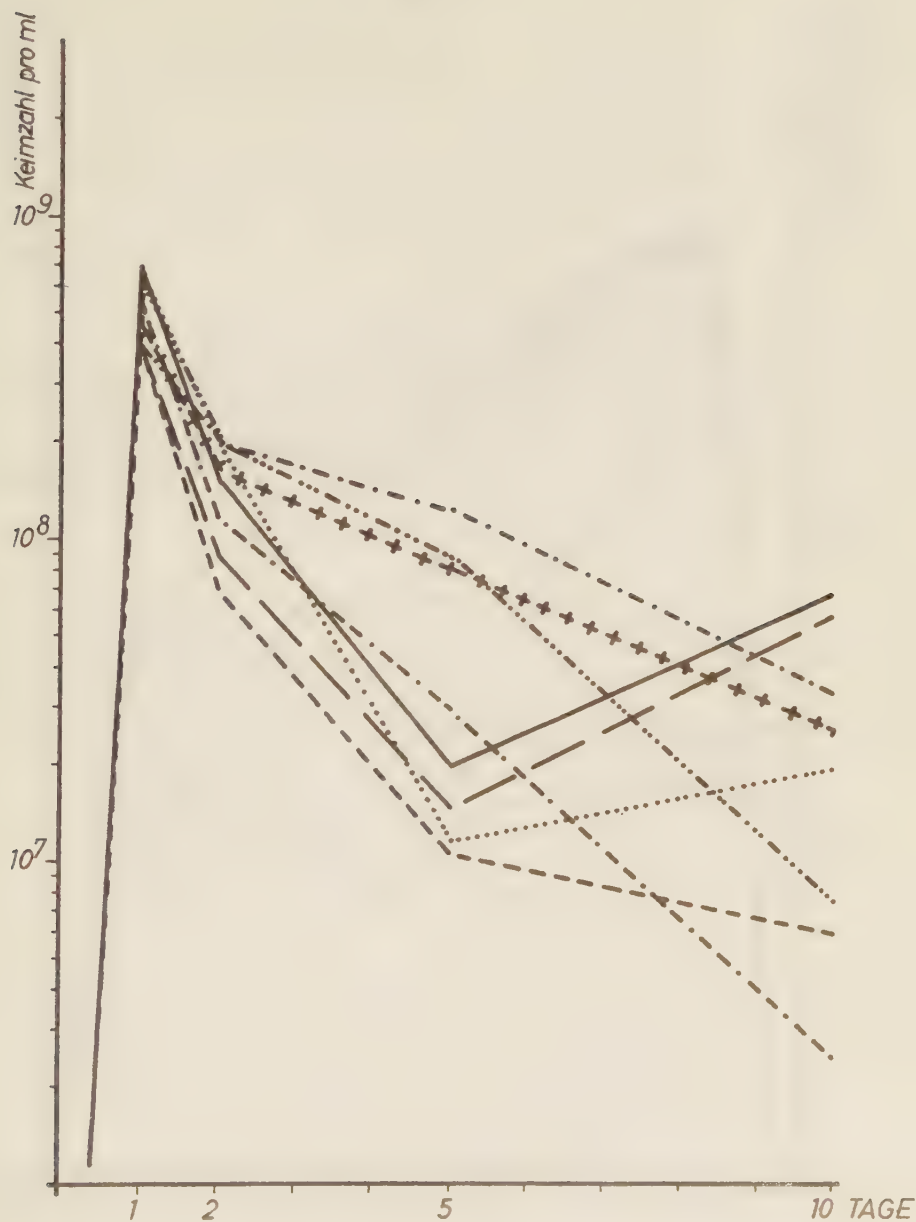


Abb. 2: Wachstum von *Pseudomonas aeruginosa* in Gegenwart von Liquoid im Röhrchenverdünnungstest. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

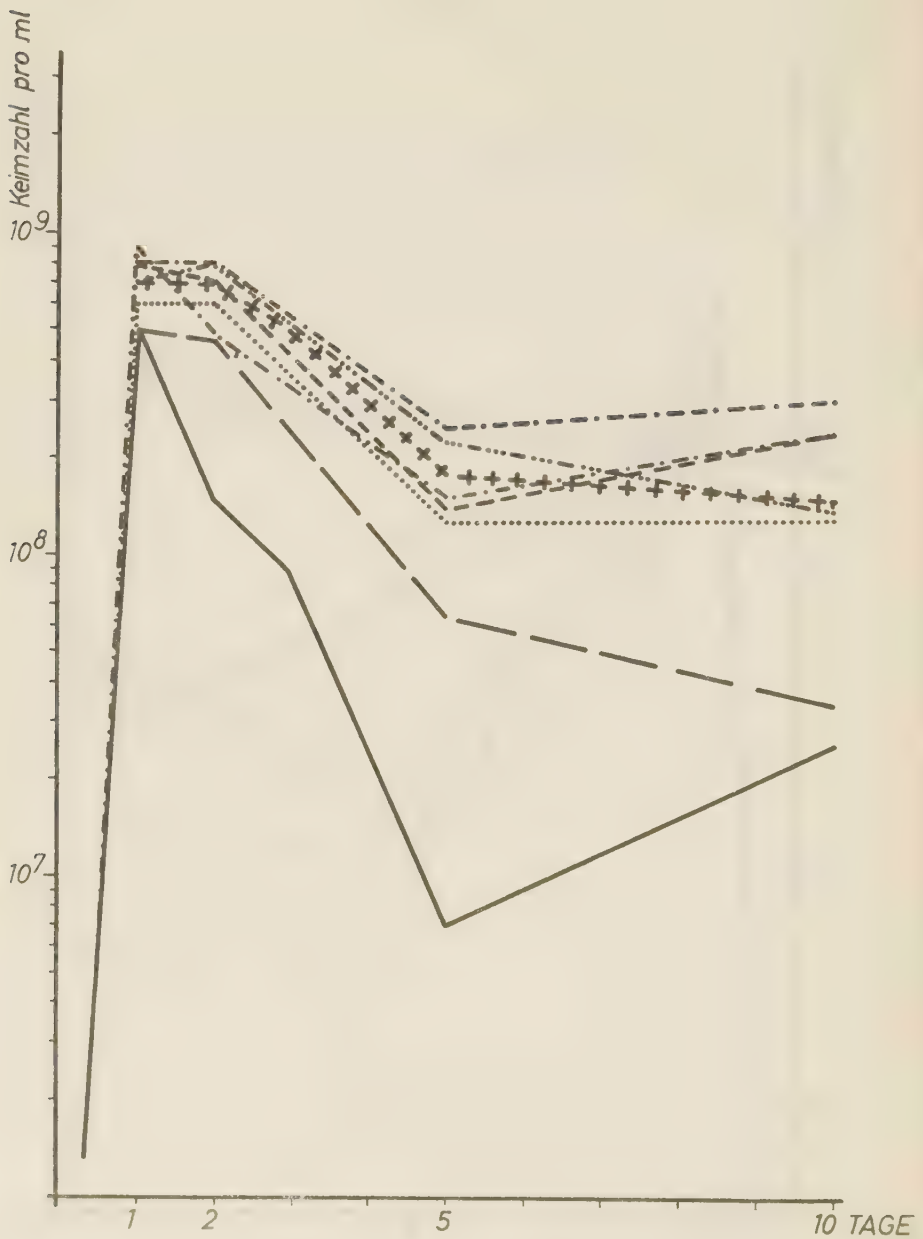


Abb. 3: Wachstum von *Escherichia coli* in Gegenwart von Liquoid im Röhrchenverdünnungstest. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

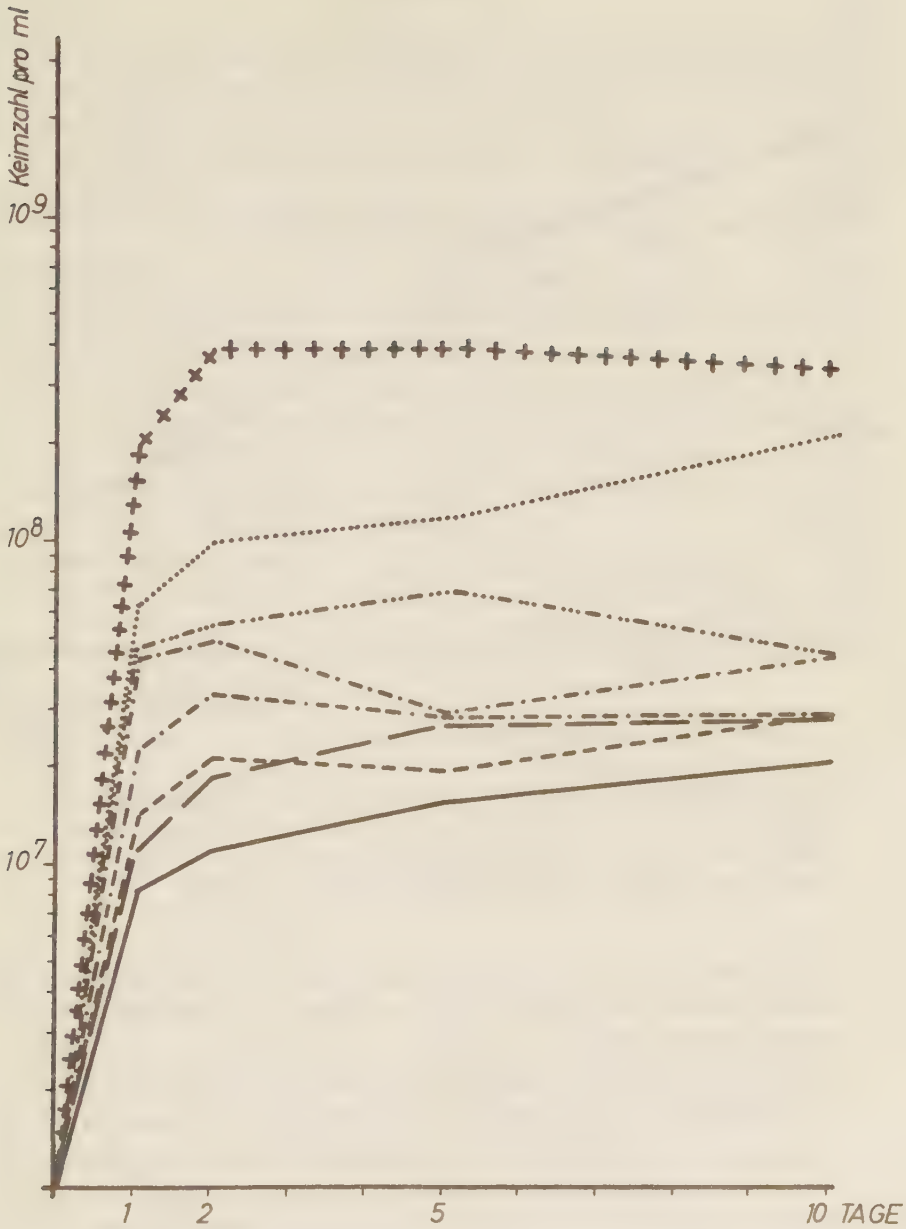


Abb. 4: Wachstum von *Staphylococcus aureus* in Gegenwart von Liquoid im Röhrchenverdünnungstest. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

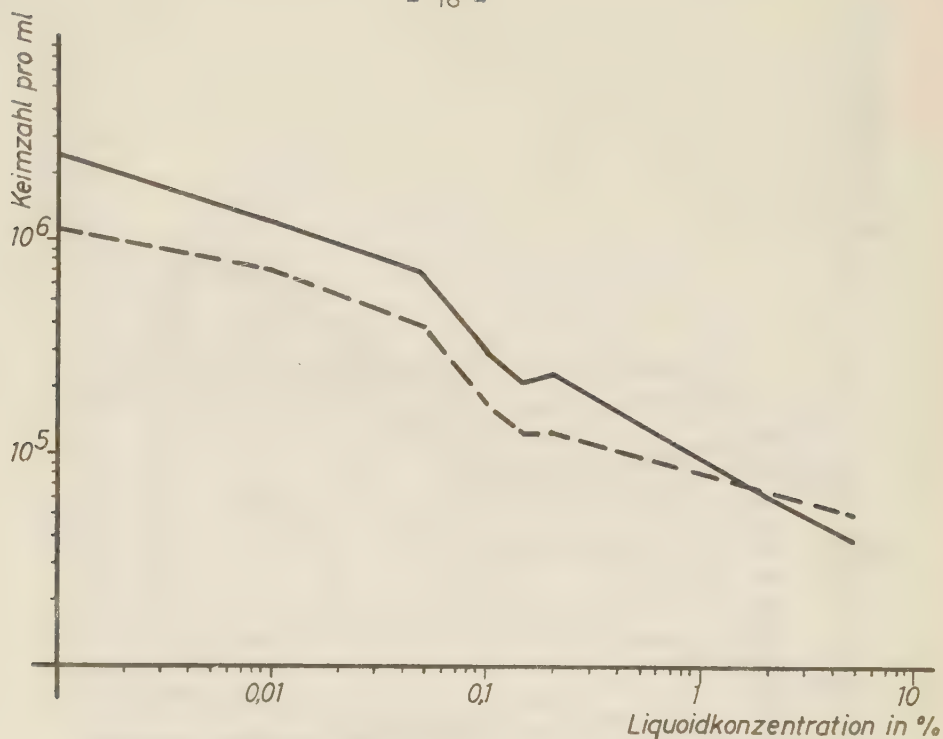


Abb. 5: Vermehrung von hämolysierenden Streptokokken in Nährbouillon mit verschiedenen Liquoidkonzentrationen. Wachstum nach einem Tag: durchgezogene Linie, nach 2 Tagen: gestrichelte Linie. Auf beiden Achsen logarithmischer Maßstab.

weil diese Bakterienart als obligate Aerobier auf der Oberfläche der Bouillon eine "Haut" zu bilden pflegt, die nur schwer zu homogenisieren ist.

Escherichia coli (Abb. 3) zeigt nur bei 2 % und 5 % Liquoid ein rascheres Absinken der zunächst erreichten Keimzahlen.

Staphylococcus aureus (Abb. 4) und hämolysierende Streptokokken (Abb. 5) zeigen eine konzentrationsabhängige Wachstumshemmung durch Liquoid auf. Diese ist jedoch möglicherweise nicht so groß wie es zunächst scheint, denn nach UEECKE und POETSCHKE (85) muß bei der Keimzählung nach der Gußplattenmethode mit

einem mittleren Fehler von wenigstens 12 % gerechnet werden. Immerhin zeigen die Kurven deutlich, daß zumindest hohe Liquoidkonzentrationen (über 0,15 %) das Wachstum von *Staphylococcus aureus* und hämolysierenden Streptokokken verlangsamen.

2. Überleben von Keimen in Gegenwart von Liquoid

a) Methodik

Benutzte Bakterienstämme: hämolysierende Streptokokken, *Brucella abortus*, *Listeria monocytogenes*.

Bebrüten dieser Stämme in Traubenzucker-Nährbouillon bei 37° C (hämolysierende Streptokokken und *Listeria monocytogenes* 16 h, *Brucella abortus* 5 Tage) und Beimpfen der nachstehend genannten liquoidhaltigen physiologischen NaCl-Lösungen mit 200 bis 650 Keimen pro ml.

Bebrüten dieser beimpften liquoidhaltigen NaCl-Lösungen bei 37° C und Prüfung auf Überleben der Keime durch Überpipettieren von je 0,2 ml in Traubenzucker-Nährbouillon; Prüfung auf vermehrungsfähige Keime durch Subkulturen aus dieser Nährbouillon auf Blutagar Nährböden.

Liquoidhaltige physiologische Kochsalzlösung mit 0,08 %, 0,15 %, 0,3 %, 0,6 %, 0,9 %, 1,5 % und 3 % Liquoid (Negativkontrollen: liquoidfreie physiologische Kochsalzlösung und aqua dest.).

Die Versuche wurden mit den genannten Stämmen mehrmals wiederholt; sie hatten jedesmal ein annähernd gleiches Ergebnis.

b) Ergebnisse

Für jeden Stamm ist ein Versuchsprotokoll nachstehend wiedergegeben.

Subkultur angelegt	Liquoidkonzentration in %								NaCl a.d.
	3	1,5	0,9	0,6	0,3	0,15	0,08		
sofort	+	+	+	+	+	+	+	+	+
nach 1/2 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
nach 1 h	+	+	+	+	-	+	+	-	+
nach 2 h	-	-	+	+	-	-	-	-	+
nach 5 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nach 9 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 1: Überleben von hämolysierenden Streptokokken in physiologischer Kochsalzlösung verschiedener Liquoidkonzentrationen.

und in liquoidfreien Negativ-Kontrollen. Wachstum in der Subkultur: +; kein Wachstum: -.

Subkultur angelegt	Liquoidkonzentration in %								NaCl a.d.
	3	1,5	0,9	0,6	0,3	0,15	0,06		
sofort	+	+	+	+	+	+	+	+	+
nach 1/2 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 1 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 1 1/2 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 2 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 4 h	+	-	-	-	-	-	-	-	-
" 6 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 8 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 24 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 2: Überleben von *Brucella abortus* in physiologischer Kochsalzlösung verschiedener Liquoidkonzentrationen und in liquoidfreien Negativ-Kontrollen. Wachstum in der Subkultur: +; kein Wachstum: -.

Subkultur angelegt	Liquoidkonzentration in %								NaCl a.d.
	3	1,5	0,9	0,6	0,3	0,15	0,06		
sofort	+	+	+	+	+	+	+	+	+
nach 1/2 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 1 h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 1 1/2 h	+	-	+	-	+	+	+	-	+
" 2 h	+	-	-	-	-	-	-	-	-
" 4 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 6 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 8 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 24 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 3: Überleben von *Listeria monocytogenes* in physiologischer Kochsalzlösung verschiedener Liquoidkonzentrationen und in liquoidfreien Negativ-Kontrollen. Wachstum in der Subkultur: +; kein Wachstum: -.

Die Tab. 1-3 zeigen, daß hämolysierende Streptokokken, *Brucella abortus* und *Listeria monocytogenes* in nährstofffreien Lösungen sowohl in Gegenwart von Liquoid bis zu einer Konzentration

von 3 % wie auch in liquoidfreien Kontrollen nach Bebrütung bei 37° C ohne Unterschied etwa 2 Stunden überleben.

3. Keimwachstum auf liquoidhaltigen Blutagar-Nährböden

a) Methodik

Benutzte Bakterienstämme: *Staphylococcus aureus*, hämolysierende Streptokokken, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Brucella abortus* und *Listeria monocytogenes*.

Bebrüten dieser Stämme in Nährbouillon bei 37° C (*Neisseria meningitidis* 48-49 h, die anderen 16 h). Herstellen einer Verdünnungsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu der Verdünnung 10^{-7} .

Beimpfung der nachstehend genannten Nährböden mit dem Inhalt je einer Präzisionsöse von 6 mm Durchmesser aus den Röhrchen mit den Verdünnungen 10^{-4} - 10^{-7} .

Bebrütung bei 37° C und Zählung der angewachsenen Kolonien nach einem Tag (*Neisseria meningitidis* nach 3 Tagen, *Brucella abortus* nach 8 Tagen).

Nährböden: Menschenblutagar-Nährböden mit 0,01 %, 0,15 %, 0,5 % und 3 % Liquoid.

b) Ergebnisse

Nachstehend sind die Versuchsergebnisse tabellarisch wiedergegeben. Die Versuche mit *Neisseria meningitidis* wurden wegen des auffallenden Ergebnisses mehrmals wiederholt.

Liquoid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
3,0 %	0	2	5	103
0,5 %	0	3	13	136
0,15 %	0	0	10	135
0,01 %	0	0	16	110
Negativ-Kontr.	0	3	16	102

Tab. 4: Wachstum von *Staphylococcus aureus* auf liquoidhaltigen Blutagar-Nährböden. Die Zahlen der Tabelle geben die Anzahl der gewachsenen Kolonien an.

Liquoid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
5,0 %	0	2	37	↑
0,5 %	0	6	49	↑
0,15 %	0	3	35	↑
0,01 %	2	6	32	↑
Negativ-Kontr.	0	2	43	↑

Tab. 5 : Wachstum von hämolysierenden Streptokokken auf liquoidhaltigen Blutagar-Nährböden. Zahlen: Anzahl der gewachsenen Kolonien. Das Zeichen ↑ deutet an, daß die Kolonien zu einem Rasen zusammengewachsen waren und daher nicht gezählt werden konnten.

Liquoid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
5,0 %	0	13	145	↑
0,5 %	4	10	135	↑
0,15 %	0	9	115	↑
0,01 %	0	9	80	↑
Negativ-Kontr.	4	4	113	↑

Tab. 6 : Wachstum von E. coli auf liquoidhaltigen Blutagar-Nährböden. Zahlen: Anzahl der gewachsenen Kolonien. ↑: Kolonien zu einem Rasen zusammengewachsen.

Liquoid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
5,0 %	0	17	~ 420	↑
0,5 %	6	31	~ 310	↑
0,15 %	2	55	~ 300	↑
0,01 %	5	45	~ 220	↑
Negativ-Kontr.	2	65	↑	↑

Tab. 7 : Wachstum von Brucella abortus auf liquoidhaltigen Blutagar-Nährböden. Zahlen: Anzahl der gewachsenen Kolonien. ↑: Kolonien zu einem Rasen zusammengewachsen. Das Zeichen ~ gibt an, daß die Kolonien nahezu zu einem Rasen zusammengewachsen waren, und daher nur überschlagsmäßig gezählt werden konnten.

Liquid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
3,0 %	2	110	↑	↑
0,5 %	22	195	↑	↑
0,15 %	17	130	↑	↑
0,01 %	15	120	↑	↑
Negativ-Kontr.	14	185	↑	↑

Tab. 8 : Wachstum von *Listeria monocytogenes* auf liquidhaltigen Blutagar-Nährböden. Zahlen: Anzahl der gewachsenen Kolonien.
↑ : Kolonien zu einem Rasen zusammengewachsen.

Liquid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
3,0 %	0	0	0	0
0,5 %	0	0	0	0
0,15 %	0	0	(73)	↑
0,01 %	0	11	32	~ 350
Negativ-Kontr.	1	12	67	↑

Tab. 9 : Wachstum von *Neisseria meningitidis* auf liquidhaltigen Blutagar-Nährböden. Zahlen: Anzahl der gewachsenen Kolonien.
↑ : Kolonien zu einem Rasen zusammengewachsen. Die Zahlen in Klammern bedeuten ein auf 3 Tage verzögertes Anwachsen bis zu normaler Koloniegröße.

Liquid- konzentration	Verdünnungen			
	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
3,0 %	0	0	0	0
0,5 %	0	0	0	0
0,15 %	0	0	0	0
0,01 %	0	8	(40)	↑
Negativ-Kontr.	4	5	120	↑

Tab. 10: Wachstum von *Neisseria meningitidis* auf liquidhaltigen Blutagar-Nährböden. Zeichenerklärung s. Tab. 9.

Liquid- konzentration	Verdünnungen				
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	unverdünnt
3,0 %	o	o	o	o	o
0,5 %	o	o	o	o	o
0,15 %	o	o	o	o	↑
0,01 %	o	o	(1)	(46)	↑
Negativ-Kontr.	o	o	12	61	↑

Tab. 11: Wachstum von *Neisseria meningitidis* auf liquidohaltigen Blutagar-Nährböden. Zeichenerklärung s. Tab. 9.

Liquid- konzentration	Verdünnungen				
	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	unverdünnt
3,0 %	o	o	o	o	o
0,5 %	o	o	o	o	(↑)
0,15 %	o	o	o	(100)	↑
0,01 %	22	118	↑	↑	↑
Negativ-Kontr.	17	100	↑	↑	↑

Tab. 12: Wachstum von *Neisseria meningitidis* auf liquidohaltigen Blutagar-Nährböden. Zeichenerklärung s. Tab. 9.

Aus den Tab. 4-8 geht hervor, daß *Staphylococcus aureus*, hämolysierende Streptokokken, *Escherichia coli*, *Brucella abortus* und *Listeria monocytogenes* selbst bei 3 % Liquid im Wachstum nicht gehemmt waren und nach 1 Tag (*Brucella abortus* nach 6 Tagen) bei allen Konzentrationen gleichmäßig zu normaler Koloniegröße anwuchsen. Die Tab. 9-12 dagegen zeigen, daß *Neisseria meningitidis* schon bei 0,01 % Liquid in geringerer Zahl und verzögert anwuchs. Bei 0,15 % war nur noch in 2 Versuchen verringertes und stark verspätetes Wachstum zu verzeichnen. Bei 0,5 % blieben die Subkultur-Nährböden unbewachsen bis auf eine Ausnahme, bei der mit einer sehr hohen Keimzahl (1,1 Millionen) beimpft worden war.

Von den getesteten Bakterienarten im vorliegenden Versuch zeigte sich nur *Neisseria meningitidis* von Liquid im Wachstum gehemmt, und dies schon in Konzentrationen (unter 0,15 %), die in einer gefüllten Liquidovenüle erreicht werden.

4. Vergleich zweier Blutkulturmethoden

a) Methodik

Wie erwähnt, wurde seit April 1965 die Technik der Verarbeitung von Liquoidvenülen am Würzburger Hygiene-Institut ausführlicher gestaltet. Es wurde daher versucht, diese Verfahren (siehe Abschnitt B, Punkt 7) bei 100 zur Untersuchung auf bakterielle Erreger eingegangenen Liquoidvenülen mit der Methode von MASSA und BATTISTINI (52) (s. Abschnitt B, Punkt 7) zu vergleichen.

b) Ergebnisse

Nach der Methode des Instituts waren in 11 %, nach der Methode von MASSA und BATTISTINI in 10 % der Blutproben Keime als Krankheitserreger nachweisbar. Die Zahl der sekundären Verunreinigungen lag jeweils bei 19 %. In beiden Reihen trat in keinem Falle noch nach dem 5. Bebrütungstag Bakterienwachstum ein.

Unter den Bedingungen dieses Vergleichs besteht kein Unterschied in der Ausbeute positiver Kulturen bei beiden Methoden. Es muß aber eingeräumt werden, daß sich bei Varianz der Methoden oder größerer Untersuchungszahl^{*)} die Vergleichsprozentszahlen verändern könnten.

5. Versuch einer Bewertung der Ergebnisse bei der Untersuchung von 3963 Liquoidvenülen

a) Methodik

In der Zeit vom 1.1.59 bis 10.9.1966 wurden am Würzburger Hygiene-Institut 3963 Liquoidvenülen auf bakterielle Erreger untersucht. Im folgenden wird der Versuch unternommen, die Ergebnisse dieser Untersuchungen kritisch zu sichten.

^{*)}Es war nicht möglich, in der zur Verfügung stehenden Zeit die Zahl der Untersuchungen zu vergrößern, zumal nur die Venülen, die wenigstens 8 ml Patientenblut enthielten, nach beiden Methoden untersucht werden konnten.

Ort	Würzburg		Winston-Salem N.C.		Glasgow	
Zeitraum	1959-1966		1942-1946		1942-1946	
Autor	Hygiene-Inst.		King		Stuart	
Gesamtzahl	3963		2233		816	
Prozentzahl positiver Kulturen	15,3 %		5,4 %		20,8 %	
Anzahl isolierter Mikroorganismen	637		121		170	
Staphylokokken	332	52,1 %	48	30,6 %	46	27,1 %
Streptokokken	81	12,7 %	43	35,5 %	77	45,3 %
Enterokokken	28	4,4 %	0	0,0 %	0	0,0 %
Pneumokokken	9	1,4 %	4	3,3 %	9	5,3 %
Meisserien	-	-	-	-	-	-
N. meningitidis	4	0,6 %	3	2,5 %	3	1,8 %
N. gonorrhoeae	0	0,0 %	1	0,8 %	0	0,0 %
E. coli und Coliforme	100	15,7 %	10	8,3 %	6	3,5 %
Salmonellen	-	-	-	-	-	-
S. typhi	19	3,0 %	1	0,8 %	2	1,2 %
S. paratyphi A, B u. C	4	0,6 %	0	0,0 %	16	9,4 %
übrige Salmonellen	2	0,3 %	0	0,0 %	2	1,2 %
Proteusbakterien	17	2,7 %	1	0,8 %	1	0,6 %
Klebsiellen u. Enterobacter	3	1,3 %	4	3,3 %	0	0,0 %
Serratia marcescens	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %
Pseudomonas aeruginosa	16	2,5 %	1	0,8 %	0	0,0 %
Pseudomonas fluorescens	6	0,9 %	0	0,0 %	0	0,0 %
Alcaligenes faecalis	5	0,8 %	0	0,0 %	0	0,0 %
Haemophilus influenzae	3	0,5 %	1	0,8 %	3	1,8 %
Brucellen	-	-	-	-	0	0,0 %
Br. abortus	1	0,2 %	2	1,7 %	-	-
Br. melitensis	0	0,0 %	0	0,0 %	-	-
Bacterium anitratum	2	0,3 %	0	0,0 %	0	0,0 %
Clostridien	0	0,0 %	1	0,8 %	0	0,0 %
Leptospira icterohaemorrhagiae	0	0,0 %	0	0,0 %	1	0,6 %
verschiedene Leptospiren	0	0,0 %	1	0,8 %	4	2,4 %
Candida albicans	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %
Cryptococcus neoformans	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %

Tab. 13: Eigene Blutkulturstatistik im Vergleich zu anderen Autoren

Los Angeles		Los Angeles - 1940		New York		San Jose		Frankfurt/M.	
1940		1940-1945		1940-1945		1940-1945		1940-1945	
Kotin		Scott		Schneidersen u. Miterb.		Erjaltbert u. Miterb.		Stille	
5000		515		5357		2867		655	
6,5 %		7,8 %		6,5 %		12,0 %		9,6 %	
325		40		362		379		63	
54	16,6 %	1	2,5 %	56	15,4 %	118	31,4 %	8	12,7 %
61	18,8 %	1	2,5 %	67	18,5 %	134	35,4 %	16	25,4 %
0	0,0 %	4	10,0 %	15	4,1 %	15	4,0 %	5	7,9 %
110	34,0 %	2	22,5 %	17	4,7 %	0	0,0 %	3	4,8 %
-	-	-	-	-	-	4	1,1 %	-	-
7	2,2 %	3	7,5 %	8	2,2 %	-	-	2	3,2 %
0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	-	-	0	0,0 %
42	12,9 %	4	10,0 %	56	16,0 %	20	5,3 %	11	17,5 %
6	1,8 %	-	-	10	2,7 %	-	-	-	-
-	-	9	22,5 %	-	-	26	6,9 %	3	4,8 %
-	-	0	0,0 %	-	-	6	1,6 %	4	6,4 %
-	-	1	2,5 %	-	-	0	0,0 %	1	1,6 %
8	2,5 %	0	0,0 %	25	6,9 %	1	0,3 %	3	4,8 %
13	4,0 %	3	7,5 %	56	15,4 %	2	0,5 %	3	4,8 %
0	0,0 %	0	0,0 %	1	0,3 %	0	0,0 %	0	0,0 %
7	2,2 %	2	5,0 %	21	5,8 %	0	0,0 %	2	3,2 %
0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %
6	1,8 %	0	0,0 %	6	1,7 %	7	1,8 %	1	1,6 %
6	1,8 %	2	5,0 %	0	2,5 %	11	2,9 %	0	0,0 %
0	0,0 %	0	0,0 %	2	0,6 %	-	-	0	0,0 %
-	-	-	-	-	-	2	0,5 %	-	-
-	-	-	-	-	-	5	1,3 %	-	-
0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %
0	0,0 %	0	0,0 %	2	0,6 %	5	1,3 %	0	0,0 %
0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %
5	1,5 %	1	2,5 %	6	1,7 %	23	6,1 %	1	1,6 %
0	0,0 %	0	0,0 %	2	0,6 %	0	0,0 %	0	0,0 %
0	0,0 %	0	0,0 %	1	0,3 %	0	0,0 %	0	0,0 %

b) Ergebnisse

1. Gesamtzahl der untersuchten Venülen	3963
2. Anzahl der Venülen mit Erregernachweis	608 (= 15,3 % von 1)
3. Anzahl der Venülen mit Nachweis von 2 verschiedenen Erregern	29 (= 0,7 % von 1 = 4,8 % von 2)
4. Anzahl der Venülen mit sekundären bakteriellen Verunreinigungen	773 (= 19,5 % von 1)
5. Aufschlüsselung von 4:	
Staphylokokken	32 %
aerobe Sporenbildner	18,5 %
Sarcinen u. andere saprophytäre Kokken	10,8 %
apathogene Corynebakterien	5,1 %
Schimmelpilze	2,1 %
6. Anzahl der Venülen mit negativem Untersuchungsbefund	3352 (= 84,2 % von 1)

Eine tabellarische Aufstellung der gefundenen Keime ist in Tab.13 wiedergegeben, zugleich mit den Vergleichszahlen einiger großer Blutkulturstatistiken anderer Autoren.

Für die 6 Jahre von 1959 bis 1964 wurde außerdem der jährliche prozentuale Anteil der Staphylokokken, Streptokokken und Gram-negativen Stäbchenbakterien graphisch dargestellt. (Abb. 6) Bei dem Versuch einer kritischen Bewertung mußten die Ergebnisse der Untersuchungen von Liquoidvenülen der Jahre 1965 und 1966 unberücksichtigt bleiben, da seit Mai 1965 das Liquoidvenülen-Untersuchungsverfahren geändert und bei der Beurteilung der Ergebnisse kritischer verfahren wurde.⁹⁾ Die Abb.6 soll zeigen, ob sich im Zeitraum von 1959 bis 1964 ein Erregerwandel nachweisen läßt. Der Versuch einer diesbezüglichen Aussage erscheint statt-

⁹⁾ Seit Mai 1965 wurden alle Staphylokokkenstämme in Pathogenitätstesten (Koagulasetildung, Phosphatasetildung usw.) geprüft, die Streptokokkenstämme wurden weitestgehend serologisch differenziert, die Enterobakteriaceen-Diagnostik führte in allen Fällen bis zur Artbestimmung usw.

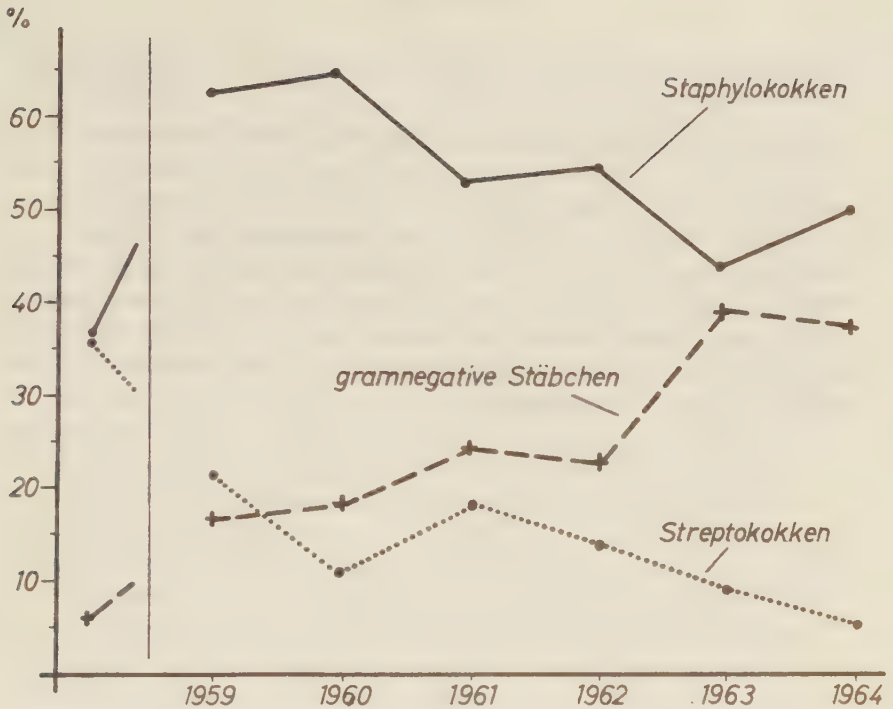


Abb. 6 : Prozentualer Anteil der Staphylokokken, Streptokokken u. gramnegativen Stäbchenbakterien an der Gesamtzahl der aus Liquorvenen gezüchteten Erreger in den Jahren 1959 - 1964. Links die Vergleichszahlen von DIMMLING (18) aus den Jahren 1946-1948.

haft, da in dieser Zeit Untersuchungstechniken und Beurteilung der Ergebnisse von demselben Untersucherteam konstant gehandhabt wurden. Am linken Rand der Abbildung sind die von DIMMLING (18) mit einer anderen Blutkulturtechnik erzielten Vergleichsergebnisse der Jahre 1946-1948 (362 Blutkulturen) aus unserem Institut und Einzugsgebiet wiedergegeben. Für die drei Bakteriengruppen wurde die Veränderung der Prozentanteile an den insgesamt gefundenen Erregern auf Signifikanz geprüft. Dabei wurde der Anteil im Jahre 1959 mit dem im Jahre 1964 verglichen, d.h. die Anfangs- und Endpunkte der Kurven in Abb. 6 . Die Signifikanzberechnung wurde nach der Ereignisstatistik (Vergleich zweier relativer

Häufigkeiten) im strengen Differenzverfahren nach der Formel

$$\sigma_L = \pm \sqrt{p \cdot q \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}} \quad *) \text{ durchgeführt, was bei Zu-}$$

grundelegung von 3σ als Fehlergrenze eine Wahrscheinlichkeit von 99,73 % für die Richtigkeit des Ergebnisses ergibt (58). Danach hat sich der Anteil der Streptokokken im vorliegenden Untersuchungsmaterial zwischen 1959 und 1964 signifikant verringert, der der gramnegativen Stäbchenbakterien signifikant erhöht; für eine relative Verringerung der Staphylokokken ergab sich keine Signifikanz.

*) σ_D = Differenz der mittleren Abweichungen der beiden zu vergleichenden relativen Häufigkeiten

n_1 = Anzahl der Fälle der 1. Reihe

n_2 = Anzahl der Fälle der 2. Reihe

p_1 = relative Häufigkeit der 1. Reihe in %

p_2 = relative Häufigkeit der 2. Reihe in %

$$P = \frac{n_1 \cdot p_1 + n_2 \cdot p_2}{n_1 + n_2}$$

$$Q = 100 - P$$

D. Diskussion

Die "Liquoidvenüle-Behring" enthält nach Auffüllung mit der nach der Gebrauchsanweisung vorgeschlagenen Blutmenge (8 ml) 0,11 % Liquoid. Die Liquoidkonzentration kann aber bis nahe 1 % steigen, wenn die Venüle mit weniger Blut gefüllt wird. Das ist nach eigenen Erfahrungen bei Blutentnahmen von Säuglingen und Kleinkindern oft der Fall. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß unter diesen Umständen das Wachstum von *Escherichia coli*, *Salmonella anatum*, *Brucella abortus*, *Pseudomonas aeruginosa* u. *Listeria monocytogenes* nicht nachteilig beeinflußt wird, daß also auch bei Liquoidkonzentrationen um 1 % mit positiven Ergebnissen der Blutkulturen gerechnet werden kann. Bei *Staphylococcus aureus* und hämolyisierenden Streptokokken ist diese Wahrscheinlichkeit nicht mehr so groß, denn bei einem Teil der eigenen Untersuchungen wurde leichte Wachstumshemmung dieser Keime festgestellt. *Neisseria meningitidis* wird dagegen schon bei Konzentrationen im Wachstum deutlich gehemmt, die noch unter denen einer normal gefüllten Liquoidvenüle liegen.

Diese Ergebnisse werden durch v. HAEBLER u. MILES (35) bestätigt; sie weisen darauf hin, daß 0,1 - 0,2 % Liquoid das Wachstum von Meningokokken hemmt, während Konzentrationen von 0,03-0,05 % ohne Einfluß auf das Wachstum dieser Keime sind. Auch nach PENFOLD u. Mitarb. (63) sterben Meningokokken bei 0,17 % Liquoid ab, und GRILICHESS (31) fand in seinen Versuchen bei Meningokokken in Liquoidblut eine Keimzahlverminderung von 680 auf 280 in 24 h, wobei die Liquoidkonzentration leider nicht exakt angegeben ist. Dagegen wuchsen nach Angabe von BATTISTINI (4) die Meningokokken in 0,09 % Liquoid gut, und MASSA u. BATTISTINI (52) erzielten bei 0,15 % Liquoid gute Züchtungsergebnisse bei Meningokokken-sepsis, desgleichen STUART (81) bei 0,05 % Liquoid.

Über schlechteres Wachstum von anaeroben Streptokokken bei 0,08 % Liquoid berichtet HOARE (37). OTTE (62) fand liquoidhaltige Nährböden nicht näher bezeichneter Konzentration zum Streptokokkennachweis bei Endocarditis lenta der Ascitesbouillon unterlegen. In einer neueren Untersuchung aus dem

Jahre 1966 berichtet GARROD (29) jedoch über zufriedenstellende Ergebnisse bei Züchtung von *Streptococcus viridans* in 0,03 % Liquoid. Hinweise auf nachteilige Liquoidwirkungen bei der Züchtung anderer Keimarten finden sich in der Literatur nicht.

Auf Grund der eigenen Untersuchungsergebnisse, gestützt durch die Befunde oben genannter Autoren, wird es daher für sinnvoll gehalten, die Liquoidkonzentration in den Venülen so zu senken, daß die Sicherheit liquoidempfindliche Keime, insbesondere *Neisseria meningitidis*, in Blutkulturen zu erfassen, größer wird. Es wäre z.B. möglich, in der Venüle anstelle 1 ml 1 %ige Liquoidlösung 1 ml 0,25 %ige Lösung vorzulegen. Die Technik der Methode und ihre Vorteile würden dadurch nicht beeinflußt, denn nach REGAMEY (64) wird das Komplement des Blutes schon bei 0,01 % Liquoid ausgeschaltet und die Blutgerinnung nach CHORINE (12) bei 0,02 % Liquoid, nach v.HAEBLER u. MILES (35) bei 0,025 % für 7 Tage sicher verhindert. Nach dem oben gemachten Vorschlag würde die Liquoidkonzentration einer normal gefüllten Venüle 0,028 % betragen und die Wahrscheinlichkeit einer größeren Ausbeute z.B. an Meningokokken in Blutkulturen steigen.

Die Untersuchungstechnik von Liquoidvenülen ist in den bakteriologischen Laboratorien verschieden. In einer vergleichenden Untersuchung (s. Punkt C, Teil 4) konnte kein statistisch zu sichernder Unterschied in der Ausbeute zwischen der am Würzburger Hygiene-Institut angewandten Methode (Verteilung des Blutes sofort nach Eintreffen der Venüle auf verschiedene feste und flüssige Nährböden, aerobe und anaerobe Bebrütung) und der Originalmethode von MASSA u. BATTISTINI (52) (Bebrüten des Patientenblutes in der Venüle und wiederholte Kontrolle auf Bakterienwachstum) festgestellt werden. Jedoch war, wie erwähnt, die Zahl der Untersuchungen für eine sichere Aussage zu klein. Trotzdem muß aus verschiedenen Gründen der erstgenannten Methode der Vorzug gegeben werden. 1. Da bei einer Sepsis in den meisten Fällen nicht vorauszusehen ist, welche Erreger kulturell nachweisbar sein werden, bieten verschiedene Nährböden und

verschiedene Techniken größere Erfolgsaussichten als ein Einheitsverfahren. So verwenden z.B. PENFOLD u. Mitarb. (63) 6, SCHNEIERSON u. HERSCHBERGER (71) 6, STILLE (79) 7 verschiedene hochwertige Nährmedien. 2. Durch eine möglichst bald nach der Blutentnahme vorgenommene Verteilung des Patientenblutes auf verschiedene Nährböden verringert sich die Einwirkungszeit von Liquoid auf vorhandene Keime, was für den Nachweis von z.B. Meningokokken bedeutungsvoll sein kann. 3. Das Risiko, daß durch Überwuchern mit bakteriellen Verunreinigungen eine Blutkultur bakteriologisch nicht auswertbar wird, ist bei Bebrütung in der Venüle größer, zumal sie bei den Wachstumskontrollen wiederholt geöffnet werden muß. *) Andererseits führt die Bebrütung in der Liquoidvenüle zu einer Keimanreicherung. Als Kompromiss zwischen beiden Erwägungen hat es sich uns in der Praxis bewährt, die Venüle zunächst über Nacht ungeöffnet zu bebrüten **) und dann wie beschrieben weiter zu verarbeiten. Nach den eigenen Untersuchungsergebnissen sollte jedoch das Patientenblut bei Verdacht auf Meningokokken- oder Streptokokkeninfektion ohne Vorbebrütung sofort auf verschiedene Nährböden verteilt werden, außerdem dann, wenn nach dem klinischen Befund bereits am nächsten Tag eine Keimdiagnose, ggf. eine Resistenzbestimmung als möglich

*) Zur Vermeidung solcher Verunreinigungen kann allerdings auch ein geschlossenes Bebrütungssystem verwendet werden, das flüssiges und festes Medium in einer Flasche, oder gar aerobes u. anaerobes Milieu in einer Doppelflasche enthält, und das erst nach Bewachsen der Kultur geöffnet wird (siehe auch Seite 3). CONNER u. MALLEREY (14) geben an, mit solchen Flaschen bei 255 Kulturen keine einzige Verunreinigung gehabt zu haben.

**) FOX u. FORRESTER (25) haben nachgewiesen, daß bakterielle Verunreinigungen selten schon in 24 h eine Blutkultur nicht auswertbar machen.

angenommen werden kann. In diesen Fällen wird eine Rücksprache mit dem behandelnden Arzt zweckmäßig und wertvoll sein.

Die Ausbeute positiver Blutkulturergebnisse ist, wie Tab. 13 zeigt, bei verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich. So fanden KING (42) 5,4 %, KOTIN (44) 6,5 %, SCHNEIERSON u. HERSCHBERGER (71) 6,8 %, SCOTT (74) 7,8 % u. STILLE (79) 9,6 % positive Kulturen, ENJALBERT u. Mitarb. (21) dagegen 12,0 % und STUART (81) sogar 20,8 %. Die Auswertung unserer Blutkulturen ergab 15,3 % positive Ergebnisse. In weiteren Untersuchungen geben REGAMEY (64) 1938 23,5 %, FOX u. FORRESTER (25) 1940 20,6 % und DIMMLING (18) 1950 27,0 % positive Befunde an. REYNES (66) hatte 1947 in Saigon sogar 27,5 % positive Kulturen. Trotz der Verschiedenartigkeit dieser Ergebnisse ist ein Vergleich untereinander nicht möglich, denn sie werden durch eine Reihe von Faktoren beeinflusst, wie etwa die benutzte Blutkulturtechnik, die Bemühungen zur Ausschaltung bakteriologischer Verunreinigungen oder die Beurteilung der Pathogenität der gefundenen Mikroorganismen. So finden sich etwa bei KOTIN (44) "diphteroids" und koagulasenegative weiße Staphylokokken und bei KING (42) nichthämolyisierende weiße Staphylokokken und *Bacillus subtilis* als Erreger, während andere Autoren solche Keime als apathogen nicht mitzählen. Wichtiger dürften aber andere Faktoren sein, so der Ort der Untersuchung, die Zusammensetzung des Krankengutes, die Jahreszeit, das Auftreten von Epidemien, die Strenge der Indikation zur Vornahme einer bakteriologischen Blutuntersuchung, das Ausmaß und die Art der vorausgegangenen Chemotherapie u.a.m.: So liegen z.B. einige Untersuchungen mit hoher Ausbeute vor der Zeit der massiven Anwendung von Antibiotika (18 63 64 66 81), die Untersuchungen von REYNES (66), der besonders häufig *Salmonella typhi* fand, wurden in Saigon durchgeführt und die Blutkulturen REGAMEYs (64) stammen nur von sepsisverdächtigen Patienten. - Ebenso wenig vergleichbar untereinander ist der Prozentanteil der einzelnen Keime bei den verschiedenen Autoren: Bei KOTIN (44) etwa waren aus nicht näher angeführten Gründen 34 % aller Erreger

Pneumokokken, die im Material anderer Untersucher viel seltener sind. STILLES (79) Zusammenstellung aus dem Infektionslabor einer medizinischen Klinik weist mit 12,7 % relativ wenig Staphylokokken auf, die im eigenen Untersuchungsgut mit 52,1 % häufiger nachgewiesen wurden. Dagegen fanden wir nur 12,7 % Streptokokken, die bei KING (42) mit 35,5 %, bei STUART (81) mit 45,3 % und bei ENJALBERT u. Mitarb. (21) mit 35,4 % viel öfter gezüchtet wurden. Die Gründe für diese und weitere Diskrepanzen sind aus den betreffenden Arbeiten nicht zu entnehmen und haben, wie oben angedeutet, sicher auch mannigfaltige Ursachen. Bei einigen Untersuchern mögen sie nur durch die kleine Zahl der Untersuchungen bedingt sein, wie etwa bei SCOTT (74).

Einige Autoren weisen nachdrücklich auf die Verbesserung ihrer Ausbeute durch mehrfache Blutentnahmen am gleichen Patienten (42 43 62) und durch Untersuchung venösen und arteriellen Blutes (42 56 83) hin. Für die Praxis sind diese Maßnahmen sicher erwägenswert, um die Sicherheit des Bakteriennachweises im Blut zu erhöhen.

Anschließend an die besprochene Zusammenstellung von Blutkultursergebnissen aus unserem Institut, war die Frage zu klären, ob sich die Nachweishäufigkeit bestimmter Bakterienarten in unserem Untersuchungsgut im Laufe der Jahre prozentual vergrößert oder verringert hätte. Aus Abb. 6 geht hervor, daß sich von 1959 bis 1964 der Anteil der Streptokokken ständig verringert, der der gramnegativen Stäbchenbakterien dagegen vermehrt hat; für Staphylokokken resultierte dagegen keine klare Abnahme ihres Anteils. Dieses Ergebnis kann vielleicht auf die ständig zunehmende Therapie mit Antibiotika zurückgeführt werden, gegen die Streptokokken nach wie vor gut empfindlich sind, während die gramnegativen Stäbchen zum Teil immer noch chemotherapeutische Probleme aufgeben (38 53 84).

E. Zusammenfassung

Bei der Züchtung von Bakterien aus dem strömenden Blut spielt Liquoid als Zusatz bei Blutkulturen eine wesentliche Rolle zur Verhinderung der Blutgerinnung und zur Verminderung bzw. Aufhebung der Eigenbakterizidie des Blutes. Nach einleitender Darstellung der Probleme der bakteriologischen Blutkulturtechnik werden aufgrund der Untersuchungsergebnisse die einzelnen Punkte der Fragestellung wie folgt beantwortet:

1. In der mit 8 ml Patientenblut gefüllten Liquoidvenüle ist die Vermehrung von Meningokokken infolge der durch die vorgelegte Liquoidlösung bestehenden Liquoidkonzentration erheblich erschwert. Bei Streptokokken und Staphylokokken ist eine Hemmwirkung wahrscheinlich, insbesondere dann, wenn bei Füllung mit weniger als 8 ml Blut die Liquoidkonzentration größer wird. Das Wachstum der geprüften grampositiven und gramnegativen Stäbchenbakterien wurde unter denselben Versuchsbedingungen nicht beeinflusst.
2. Eine gesicherte Aussage über den Unterschied in der Ausbeute der Verfahren nach MASSA u. BATTISTINI (52), d.h. Bebrütung des Patientenblutes in der Venüle, und der Bebrütung auf verschiedenen Nährböden nach Entnahme mit der Liquoidvenüle war bei der Zahl der durchführbaren Untersuchungen nicht möglich.
3. Aus den Ergebnissen von 3963 bakteriologischen Blutkulturen in den Jahren 1959 bis 1966 war ein Erregerwandel statistisch zu sichern: in diesem Zeitabschnitt nahm die Anzahl der in bakteriologischen Blutkulturen nachweisbaren gramnegativen Stäbchenbakterien zu, die der Streptokokken verminderte sich. Für Staphylokokken war eine statistisch zu sichernde Aussage nicht möglich. - Diese am Würzburger Hygiene-Institut erhobenen Befunde können nicht mit Blutkulturstatistiken anderer Autoren verglichen werden, da eine Reihe von für Vergleiche notwendigen Voraussetzungen nicht gegeben sind.

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen wird vorgeschlagen:

- a) Die Liquoidkonzentration der vorgelegten Lösung sollte auf 0,25 % herabgesetzt werden.
- b) Das Patientenblut sollte nach der Entnahme zunächst über Nacht in der Venüle bebrütet und dann auf verschiedene Nährböden verteilt mit aeroben und anaeroben Bebrütungstechniken untersucht werden. Die Vorbebrütung in der Venüle sollte unterbleiben, wenn der klinische Verdacht einer Meningokokkensepsis gegeben ist, oder wenn nach dem klinischen Befund mit einer größeren Keimmenge im strömenden Blut gerechnet werden kann.

Herrn Prof. Dr. C. Sonnenschein und Herrn Prof. Dr. H. Seeliger danke ich für die Möglichkeit, die vorliegenden Untersuchungen am Universitäts-Hygiene-Institut Würzburg durchzuführen. Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. H. Seeliger für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Universitätsdozent Dr. W. Döll möchte ich für die Überlassung des Themas, für seinen hilfreichen Rat bei der Ausführung der Untersuchungen und für die Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit herzlich danken.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALIVISATOS, G. P. Zur Frage der Blutkulturmethodik
für Streptokokken.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 129, 111
(1933)
2. DE ANTONI, O. und Il liquido quale inibitore del
C. CARTOLARI potere battericida del sangue
nelle emocolture.
Boll. Ist. sieroterap. milan.
12, 618 (1933)
3. ARMANGUE, M. Considérations sur les hémocolture
dans la pratique médicale.
Zyma-J., Nyon 1940 S. 1
4. BATTISTINI, G. Inibizione del potere battericida
nel sangue e sviluppo dei germi.
Giorn. clin. med., Parma
12, 1038 (1932)
5. BEESON, P. B., Observations on the sites of
E. S. BRANNON and removal of bacteria from the blood
J. V. WARREN in patients with bacterial endo-
carditis.
J. Exper. Med., New York, 81, 9
(1945) zitiert nach KING (42)
6. BOEZ, L. Influence du pH sur le pouvoir
bactéricide du sang.
Compt. rend. Soc. biol., Paris
101, 848 (1929) zitiert nach
GRILICHESS (31), NOVEL (60) und
REGAMEY (64)
7. BOEZ, L. et MARNEFFE Influence de la concentration
saline (NaCl) sur le pouvoir
bactéricide du sang.
Compt. rend. Soc. biol., Paris
106, 358 u. 360 (1930) zitiert
nach GRILICHESS (31), NOVEL (60)
und REGAMEY (64)
8. BRÜHL, P. Zur Pathogenese iatrogener Infek-
tionen am Beispiel der Harnweg-
entzündung durch Serratia mar-
cescens.
Materia med. Nordmark, 17, 588
(1965)
9. BUCCI, C. Il citrato di sodio ad alta dose
nella tecnica delle emocolture.
Boll. Ist. sieroterap. milan.
21, 277 (1942) referiert in Zbl.
Bakt. Ref. 143, 127 (1943)

10. CARNOT, P. et H. LAVERGNE
Culture directe dans le sang non dilué mais citraté des bactéries des groupes Eberth-Coli. Technique d'hémoculture. Compt. rend. Soc. biol., Paris 124, 722 (1939)
11. CASTENADA, M. R.
Practical method for routine blood cultures in brucellosis. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N.Y. 64, 114 (1947) zitiert nach COLEMAN u. APPLEMAN (13) und SCOTT (74)
12. CHORINE, V.
Mode d'action du Liquoide (polyanéthol-sulfonate de sodium) dans la coagulation du sang. Compt. rend. Soc. biol. Paris 135, 451 (1941)
13. COLEMAN, R. D. and M. D. APPLEMAN
Some practical inexpensive improvements on blood culture techniques. Amer. J. Med. Technol., Houston 19, 86 (1953)
14. CONNER, V. and O. T. MALLEREY
Blood culture. A clinical laboratory study of two methods. Amer. J. Clin. Path., Baltimore 21, 785 (1951)
15. DEMOLE, V. und M. REINERT
Polyanetholsulfosaures Natrium, ein neues synthetisches Mittel zur Hemmung der Blutgerinnung. Arch. exper. Path. Pharmak. 158, 211 (1930)
16. DICKHUES, B.
Eine einfache Nachweismöglichkeit von Bakterien aus dem Blut. Dtsch. med. Wschr. 26, 1634 (1951)
17. DICKHUES, B. und H.-W. KOEPPE
Experimentelle Untersuchungen zum Erregernachweis typhöser Erkrankungen aus dem Blut. Zschr. inn. Med. 8, 218 (1953)
18. DIMMLING, Th.
Über Ausführung und Beurteilung bakteriologischer Blutkulturen. Klin. Wschr. 28, 209 (1950)
19. DÖLL, W. und H. FUCHS
Ein einfaches Gerät als Hilfsmittel beim Zählen von Bakterienkolonien. Röntgen-Laborat. praxis 14, 233 (1961)

20. DULANEY, A. D. and F. GUTHRIE
The growth of bacteria from the blood stream in defibrinated blood.
J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 22, 721 (1936/37)
21. ENJALBERT L., L. LAPCHINE et M.-B. LARENG
Bactériologie de l'hémoculture chez l'homme.
Toulouse med. 57, 545 (1956)
22. FAIRBROTHER, R. W.
Blood cultures.
Practitioner, London 163, 33 (1949)
23. FELIX, A.
The qualitative receptor analysis in its application to typhoid fever.
J. Immunol, Baltimore 9, 115 (1924) zitiert nach MODI und DOGRA (54)
24. FLEURY, G. et R. CASTERA
Un nouveau procédé d'hémoculture.
Bull. Acad. med., Paris 111, 723 (1934)
25. FOX, H. and J. S. FORRESTER
Clinical blood cultures. An analysis of over 5000 cases.
Amer. J. Clin. Path., Chicago 10, 493 (1940)
26. FREAKER, R. and J. NAYMAN
A simplified closed blood culture system.
Amer. J. Clin. Path., Baltimore 41, 279 (1964)
27. FRIEDMANN, E.
Erfahrungen mit der Hämokultur in Liquoid.
Klin. Wschr. 14, 215 (1935)
28. DE GARA, P. e G. SOGLIANI
Ricerche sperimentali sull'uso del Liquoid nelle emoculture.
Boll. Ist. sieroterap. milan. 15, 171 (1936)
29. GARROD, P. R.
The growth of streptococcus viridans in sodium polyanethyl sulphonate ("Liquoid").
J. Path. Bact., Edinburgh 91, 621 (1966)
30. GERMER, W. D.
Verbesserung der Keimzüchtung bei Endocarditis lenta durch perorale Gabe von p-Aminobenzoesäure.
Dtsch. Arch. klin. Med. 197, 253 (1950)

31. GRILICHESS, R. K. Zur Verbesserung der kulturellen Blutuntersuchung.
Schweiz. med. Wschr.
62, 699 (1935)

32. GRIMBERG, A.
S. MUTERMILCH et
E. AGASSE-LAFONT L'action inhibitrice du citrate de soude sur le pouvoir bactéricide du sang humain.
Compt. rend. Soc. biol., Paris 123, 1045 (1936) zitiert nach NOVEL (60)

33. GRIMBERG, A.
S. MUTERMILCH et
E. AGASSE-LAFONT Contribution expérimentale à la technique des hémocultures par dilution du sang en bouillon.
Compt. rend. Soc. biol., Paris 125, 26 (1937), zitiert nach NOVEL (60)

34. GRIMBERG, A.
S. MUTERMILCH,
E. AGASSE-LAFONT et
H. PELLIER Sur les techniques d'hémocultures destinées à déceler les septiciémies à gonocoques ou à méningocoques.
Compt. rend. Soc. biol., Paris 128, 269 (1938)

35. VON HAEBLER, T. and
A. A. MILES The action of sodium polyanethol sulphonate ("Liquoid") on blood cultures.
J. Path. Bact., Edinburgh 46, 245 (1938)

36. HANNOUN, C. et
J. VIGOUROUX Application de l'hémoculture en embryon de poulet (Hémo-Ovoculture) à la septicémie expérimentale de lapin.
Ann. Inst. Pasteur, Paris 91, 670 (1956)

37. HOARE, E. D. The suitability of "Liquoid" for use in blood culture media, with particular reference to anaerobic streptococci.
J. Path. Bact., Edinburgh 48, 573 (1939)

38. HODGES, R. M. and
R. R. DE ALVAREZ Puerperal septicemia and endocarditis caused by pseudomonas aeruginosa.
J. Amer. Med. Ass., Chicago 172, 1081 (1960)

39. HUDDLESON, F. Growth of bacteria in blood. Use of cation exchange resins, for enhancing or suppressing growth.
Bull. World Health Organizat., New York 21, 187 (1959) referiert in Zbl. Bakt. Ref. 176, 187 (1960)

40. JADASSOHN, J. Handbuch der Haut- und Geschlechts-
krankheiten. Ergänzungswerk IV/1 A
Springer Verlag 1965, S. 1-69
41. KARDOS, F. Nase skúsenosti s hemokultiváciou
za prisady likvoidu podľa Massu
a Battistiniho.
Bratislavské lek. listy 15, 990
(1935) referiert in Zbl. Bakt.
Ref. 121, 500 (1936)
42. KING, E. S. Observations on 2233 blood cultures
and their interpretation.
Amer. Practitioner, Philadelphia
2, 291 (1948)
43. KÖHLER, W. Blutkulturen von Patienten mit
subakuter bakterieller Endocar-
ditis und verdächtige Fälle.
Zschr. inn. Med. 13, 687 (1958)
44. KOTIN, P. Techniques and interpretation of
routine blood cultures. Observations
in five thousand consecutive
patients.
J. Amer. Med. Ass., Chicago
149, 1273 (1952)
45. LANDSBERGER, O. Starre Blutkulturen bei Typhus
abdominalis und anderen infektiösen
Krankheiten.
Wien. med. Wschr. 86, 789 (1936)
46. LINKBERG, A. Über die gerinnungshemmende Wir-
kung des Liquoids.
Zschr. exper. Med. 85, 262 (1932)
47. LISBONNE L'hémoculture dans les Brucello-
ses.
J. médical franç., Paris
25, 101 (1936) zitiert nach
NOVEL (60)
48. LUSENA, M. Emoculture con Novirudina.
Boll. Ist. sieroterap. milan.
8, 539 (1929) referiert in
Zbl. Bakt. Ref. 99, 187 (1930)
49. MAASSEN, W. und Über das Vorkommen von Esche-
richia coli, Aerobacter aero-
genes und Intermediärformen
im Blut.
Zschr. Hyg. 131, 302 (1950)
50. MANLY, L. S. and An improved method of blood
culture.
C. C. SAELOHOF J. Laborat. Clin. Med., S. Louis
19, 203 (1933)

51. MARWIN, R. M. An improved blood culture bottle utilizing a solid and a liquid medium.
Amer. J. Clin. Path., Baltimore 19, 697 (1949)
52. MASSA, M. und G. BATTISTINI Einfaches und erfolgreiches Verfahren zur Blutzüchtung und direkter bakterioskopischer Nachweis im Blut.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 131, 241 (1934)
53. MC CABE, W. R. and G. G. JACKSON Gram-negative bacteremia.
Arch. Int. Med., Chicago 110, 847 (1962)
54. MODI, B. G. and J. R. DOGRA Hemoculture and triple Widal test in diagnosis of enteric group of fever.
Indian J. Med. Sc., Bombay 7, 611 (1953)
55. MOSNY, E. et H. DUMONT Septico-pyohémie dans la convalescence de la fièvre typhoïde.
Bull. Soc. méd. Hôpit., Paris (1912) 24. mai, zitiert nach NOVEL (60)
56. MURRAY, M. and F. MOOSNICK Simultaneous arterial and venous blood cultures.
J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 26, 382 (1940) zitiert nach SULLIVAN u. POWELL(83)
57. NATIVELLE, R. M. DEPARIS et A. SARRAZIN 25 cas d'infection à hémooovoculture positive.
Presse méd., Paris 71, 1055 (1963)
58. NEUSS, O. Statistik und Berechnungen in der Medizin.
Materia med. Nordmark 17, 657 (1965)
59. NIESNER, F. und V. VOLENCOVA Beitrag zum kulturellen Nachweis von Krankheitserregern im Blut.
Med. Klin. 30, 1529 (1934)
60. NOVEL, E. L'hémoculture comme moyen de diagnostic auxiliaire dans la pratique médicale.
Praxis, Bern 35, 551 u. 567 (1946)

61. ORTALI, V.
L. CAPOCACCIA und
P. CAPONE-BRAGA Tecnica rapida per l'emocultura.
Rendic. Ist. sup. sanità, Roma
20, 1131 (1957) referiert in
Exc. Med. IV, Microb. 12, 90
(1959)
62. OTTE, H. J. Züchtung von Streptokokken aus
dem strömenden Blut.
Fol. haemat. 21, 491 (1952)
63. PENFOLD, J. B.
J. GOLDMAN and
R. W. FAIRBROTHER Blood-cultures and selection
of media.
Lancet, London 238, 65 (1940)
64. REGAMEY, R. Zur Verbesserung der bakterio-
logischen Blutuntersuchung.
Zschr. exper. Med. 104, 71
(1938)
65. REILLY, J. Un procédé d'hémoculture en
milieu anaérobie.
Ann. biol. clin., Paris
5, 398 (1947)
66. REYNES, V. Densité de l'infection sanguine
dans les bactériémies et septi-
cémies.
Compt. rend. Soc. biol., Paris
141, 261 (1947)
67. ROSENFELD, J. A simplified method for prepar-
ing on all purpose closed
system blood culture bottle.
Amer. J. Med. Technol, Houston
28, 277 (1962) referiert in
Exc. Med. IV, Microb. 16, 373
(1963)
68. RUDOLPH, W. Keimzüchtung von Krankheitser-
regern aus dem strömenden Blut.
Zschr. Immunit. forsch.
95, 8 (1939)
69. SCHEFF, G. J.
C. J. MARIENFELD and
E. HACKETT Blood culture studies in rheu-
matic fever patients.
J. Infect. Dis., Chicago
103, 45 (1958)
70. SCHMIDT, H. Fortschritte der Serologie.
Steinkopf Verlag, Darmstadt
1955, S. 893
71. SCHNEIERSON, S. S. and
C. HERSCHBERGER An analysis of 5357 routine
blood cultures (1953-1955).
J. Mount Sinai Hosp., New York
23, 770 (1956)

72. SCHNEIERSON, S. S. and C. HERSCHBERGER
Blood stream invasion by unusual microorganisms.
J. Mount Sinai Hosp., New York 29, 374 (1962)
73. SCHOTTMÜLLER
Leitfaden für die klinischen und bakteriologischen Kulturmethode.
Urban u. Schwarzenberg Verlag, Berlin - Wien, 1923 S. 29
zitiert nach SGALITZER (75)
74. SCOTT, E. G.
A practical blood culture procedure.
Amer. J. Clin. Path., Baltimore 21, 290 (1951)
75. SGALITZER, G.
Beitrag zum Nachweis pathogener Keime im strömenden Blut.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 134, 393 (1935)
76. SHAW, F. W.
Growth of pathogenic bacteria in immune blood.
J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 19, 77 (1933) zitiert nach DULANEY u. GUTHRIE (20)
77. SHAW, A. B. and H. A. F. MACKAY
Factors influencing the results of blood culture in enteric fever.
J. Hyg., London, 49, 315 (1951)
78. SLOMSKA, J.
Posiewy krwi w podoстрыm bakteryjnym zapaleniu wsierdza.
Post. hig. med. doswiadsz., Warszawa, 11, 347 (1957) referiert in Exc. Med. IV, Microb. 11, 554 (1958)
79. STILLE, W.
Zur Technik von Blutkulturen am Krankenbett.
Münch. med. Wschr. 108, 442 (1966)
80. STORTI, E.
Importanza batteriologica e parassitologica della cultura e dell'esame microscopico del midollo osseo.
Gazz. osp., Milano 59, 253 (1938) referiert in Zbl. Bakt. Ref. 133, 382 (1939)
81. STUART, R. D.
The value of Liqueoid for blood culture.
J. Clin. Path., London 1, 311 (1948)

82. STUBER, B. und
K. LANG Über die Hemmung der Blutgerinnung durch Liqueoid.
Biochem. Zschr. 244, 214 (1932)
83. SULLIVAN, M. B. and
C. P. POWELL Arterial blood culture.
U. S. Arm. Forc. Med. J.,
Washington 2, 63 (1951)
84. TALBOT, C. H. Septicaemia due to gram-negative bacilli.
Lancet, London 282, 668 (1962)
85. UEHLEKE, H. und
G. POETSCHKE Keimzählung und Ermittlung von Absterbevorgängen mit Hilfe von Membranfiltern.
Zbl. Bakt. Abt. I Org. 168, 141 (1957)
86. URBACH, H. Welche Maßnahmen sind für ein erfolgreiches Blutkulturverfahren zum Erregernachweis bedeutungsvoll?
Zschr. inn. Med. 5, 698 (1950)
87. WRIGHT, H. D. The bacteriology of subacute infective endocarditis.
J. Path. Bact., Edinburgh 28, 541 (1925) zitiert nach KING (42)

LEBENS LAUF

Am 29.9.37 wurde ich als Sohn des Rechtsanwalts und Notars Josef Fischer und seiner Ehefrau Marianne geb. Schell in Worbis/Thüringen geboren. Von 1943 bis 1950 besuchte ich dort die Grundschule. Danach verließ ich die Sowjetzone und besuchte bis zum Abitur die Oberschule in Lehrte bei Hannover, wo mein Vater sich nach der Flucht wieder als Jurist niedergelassen hatte. Nach bestandenem Abitur leistete ich 1957/58 meinen Wehrdienst beim Pz. Aufkl. Btl. 3 in Lingen/Ems ab und begann 1958 im Sommersemester das Medizinstudium an der Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg. Nach dem WS 58/59 bestand ich dort das Vorphysikum, nach dem SS 60 das Physikum und nach dem WS 63/64 das medizinische Staatsexamen. Anschließend arbeitete ich 15 Monate als Medizinalassistent am Universitäts-Hygiene-Institut Würzburg, wo ich auch die vorliegende Untersuchung durchführte. Zwei Monate war ich in der Praxis niedergelassener Ärzte tätig und schloß meine Medizinalassistentenzeit im Juni 1967 am Kreiskrankenhaus Bad Neustadt/Saale ab. Dort bin ich zur Zeit in der chirurgischen Abteilung als Assistenzarzt beschäftigt.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Klaus-Fischer Fischer

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Burkarderstraße 9

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Burkarderstraße 9